(19) BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PATENTSCHRIFT

(11) DD 296 075 A5



(12) Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27.10.1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einligungsvertrag

5(51) C 07 D 295/04 C 07 D 277/04 C 07 D 403/02 C 07 D 409/02 C 12 N 9/99

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD C 07 D / 331 544 5	· (22)	07.08.89	. (44)	21.11.91			
[71]	siehe (73)			<u> </u>		<u> </u>		
(72)	Neubert, Klaus, Doz. Dr. sc. nat. DiplChem.; Bom, Ilona, Dr. rer. nat. DiplChem.; Faust, Jürgen, Dr. nat. DiplChem.; Heins, Jochen, Dr. rer. nat. DiplBiol.; Barth, Alfred, Prof. Dr. sc. nat. DiplChem.; D. muth, Hans-Ulrich, Dr. sc. nat. DiplBiochem.; Rahfeld, Jens U., DiplBlochem.; Steinmetzer, Torsten Blochem., DE							
(73)	Martin-Luther-Unviersität Halle – Wittenberg, Universitätspietz 10, O - 4010 Halle, DE							
(74)	siehe (73)	•						
(54)	Verfahren zur Herstellung n	euer Inhibitore	en der Dipeptidyl	Peptidase IV		<u> </u>		

(55) Inhibitoren; Dipeptidyl Peptidase IV; Aminosäurederivate; heterocyclische Amidstruktur; Herstellung; kompetitive Hemmung; Therapeutika; Medizin; Immunbiochemie; pharmazeutische Industrie (57) Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung neuer Inhibitoren der Dipaptidyl Peptidase IV auf der Basis spezieller Aminosäurederivate mit heterocyclischer Amidstruktur, die die katalytische Aktivität des Enzyms in gereinigter Form als auch in normalen oder pathologisch veränderten menschlichen und tierischen Seren, in Organen, Geweben und Zellen menschlicher, tierischer, pflanzlicher und mikrobieller Herkunft sowohl in vivo als auch in vitro kompetitiv hemmen und als potentielle Therapeutika in Bereichen der durch die Dipeptidyl Peptidase IV regulativ gesteuerten Stoffwechselprozesse zur Anwendung kommen. Die Erfindung ist zur Anwendung in der Medizin, insbesondere in der Immunbiologie und Pathologie und für die pharmazeutische Industrie von Bedeutung.

ISSN 0433-6461

.85#

7 Seiten

BEST AVAILABLE COPY

Patentanspruch:

 Verfahren zur Herstellung neuer Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV, gekennzeichnet dadurch, daß Aminosäureamide der allgemeinen Formel I

A-B

synthetisiert werden, worin A und B wie folgt definiert sind:

A = α-Aminocarbonsäure der Struktur H₂N-CHR-COOH (R = aliphatischer, aromatischer oder heterocyclischer Rest, beispielsweise Alanin, Valin, Leucin, Serin, Threonin, Cystein, Methionin, Prolin, Lysin, Arginin, Histidin, Glutaminsäure, Glutamin, Asparaginsäure, Asparagin, Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan, Norvalin, Norleucin, Omithin, 2,4-Diaminobuttersäure, α-Aminobuttersäure, vorzugsweise Isoleucin- jewells in der L-Konfiguration, α-Aminoisobuttersäure, im Falle der trifunktionellen Aminosäuren auch die entsprechenden N^ω- oder C^ω- oder O- bzw. S-substituierten Derivate in der L-Konfiguration, vorzugsweise N^ω-Acyl, C^ω- bzw. O-Benzyl-Aminosäuren, beispielsweise N^ε-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin, O-Benzyl-L-Serin, O-Benzyl-L-Tyrosin, L-Glutaminsäure-γ-benzylester, L-Asparaginsäure-β-benzylester sowie entsprechende, insbesondere durch Halogen, Nitro-, Hydroxy-, niedere lineare oder verzweigte Alkyl- bzw. Alkoxy-Reste ringsubstituierte Derivate des L-Phenylalanins, L-Tyrosins, L-Tryptophans, vorzugsweise 4-Nitro-L-Phenylalanin bzw. α-Iminocarbonsäuren

-CH-COOH mit n = 2,3,4 beispielsweise L-Azetidin-2-carbonsäure, der Struktur HN-L-Prolin, L-Pipecolinsäure, verwandte Verbindungen wle L-3,4-Dehydroprolin, L-Thioprolin sowie die entsprechenden durch Halogen-, Nitro-, Hydroxy-, Cyano-, niedere lineare oder verzweigte Alkyl- bzw. Alkoxyreste substituierten Derivate, beispielsweise L-4-Hydroxyprolin. B = spezielle heterocyclische Amine oder heterocyclische Aminaldehyde: Pyrrolin, Thiazolin, Piperidin, Morpholin, Pyrazolin, Pyrazolidin, Piperazin, Oxazolin, Oxazolidin, Imidazolin, Imidazolidin, Azetidin, Aziridin vorzugsweise Pyrrolidin, Thiazolidin, L-Prolinal, L-Thioprolinal, sowie die entsprechenden durch Halogen-, Nitro- bzw. Alkylreste substitulerten Derivate und ihre Darstellung ausgehend von X-A-Y bzw. X-A(Z)-Y (im Falle einer trifunktionellen Aminosäure für A) durch Umsetzung mit B, worin A und B wie oben definiert sind, X für eine in der Peptidchemie gebräuchliche a-Aminoschutzgruppe, vorzugsweise der tert. Butyloxycarbonyl-Rest steht. Zin Abhängigkeit von der Struktur der trifunktionellen Aminosäure eine gebräuchliche Seitenkettenschutzgruppe, bevorzugt vom tert. Butyl-Typ (tert. Butyloxycarbonyl, tert. Butylester, O-oder S-tert. Butyl) darstellt, und Y Hydroxy, Aktivester, bevorzugt Pentafluorphenyl bzw. N-Hydroxysuccinimidester bedeutet nach den in der Peptidchemie üblichen Methoden zur Knüpfung der Amidbindung, vorzugsweise über die Mischanhydridtechnik bzw. die : Aktivestermethode erfolgt und anschließend die für X und Z eingesetzten Schutzgruppen mit den in der Peptidchemie üblichen Deblockierungsverfahren für die oben genannten Schutzgruppen vom tert. Butyl-Typ durch Acidolyse entfernt und falls erforderlich durch Umkristallisation bzw. durch Säulenchromatographie an Sephadex G 10 oder schwach saurem lonenaustauscher gereinigt

2. Verfahren zur Herstellung neuer Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Aminosäurederivate

lle-pyrrolidid,

lle-thiazolidid,

(CH2)n-

lle-profinal,

lle-thioprolinal,

Nº-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-pyrrolidid,

Nº-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-thiazolidid,

N°-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-prolinal

Nº-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-thioprolinal.

hinsichtlich ihrer Inhibitorischen Wirkpotenz bevorzugte Verbindungen darstellen.

a

3. Verfahren zur Herstellung neuer Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV nach Anspruch 1 und 2, gekennzeichnet dadurch, daß diese und/oder deren pharmazeutisch annehmbare Salze die katalytische Aktivität des Enzyms in gereinigter Form als auch in normalen oder pathologisch veränderten menschlichen und tierischen Organen, Geweben und Zellen menschlicher, tierischer, pflanzlicher und mikrobieller Herkunft sowohl in vivo als auch in vitro hemmen und als potentielle Therapeutika in Bereichen der durch die Dipeptidyl Peptidase IV regulativ gesteuerten Stoffwechselprozesse für die Medizin von Bedeutung sind.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung neuer Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV (DPIV) auf der Basis spezieller Aminosäurederivate mit heterocyclischer Amidstruktur. Die erfindungsgemäßen Verbindungen hemmen die katalytische Aktivität der Dipeptidyl Peptidase IV kompetitiv und können als reversible DD IV-Inhibitoren im Bereich medizinisch-biologischer Prozesse, an denen das Enzym funktionell betelligt ist, als potentielle Diagnostika bzw. Therapeutika zur Anwendung kommen. Die Erfindung ist zur Anwendung in der Human- und Veterinärmedizin, Pathobiochemie, Pharmakologie, Immunbiochemie und für die pharmazeutische Industrie geeignet.

Charakteristika des bekannten Standes der Technik

Die Dipeptidyl Peptidase IV ist ein im Säugerorganismus ublquitär vorkommendes Enzym. Sie ist eine Serinprotease mit ausgeprägter Substratspezifität, die konsekutiv vom N-terminalen Ende einer Peptid- oder Proteinkette Dipeptide der Struktur X_{sr}-Pro und X_{sr}-Ala abspaltet, vorausgesetzt in dritter Position der Sequenz befinden sich keine Prolin- oder Hydroxyprolin-Reste (vgl. Küllertz et al., Dipeptidyl Peptidase IV-Chemie, Biochemie und physiologische Aspekte, Belträge zur Wirkstofforschung Heft 11, Akademie-Industrie-Komplex Arznelmittelforschung 1981). Neuere Befunde zeigen, daß die Dipeptidyl Peptidase IV ein physiologisch-biochemisch relevantes Enzym zu sein scheint, das en einer Reihe von Stoffwechselprozessen, u.a. der Blutdruckregulation, Blutgerinnung und Proliferationsprozessen funktionell beteiligt ist (vgl. G. Küllertz et al., Dipeptidyl Peptidase IV-Biochemie, Physiologie und Pathobiochemie, Beiträge zur Wirkstofforschung, Heft 27, Akademie-Industrie-Komplex Arzneimittelforschung 1986). Bekannt ist, daß X_{ss}-Pro- bzw. X_{ss}-Ala-Dipeptide als kompetitive Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV wirksam sind, wobel ihre inhibitorische Wirkpotenz von der Struktur des N-terminalen Aminosäure X₂₀ abhängig ist. Inspessent gesehen ist aber ihre inhibitorische Wirksamkeit nicht stark ausgeprägt (H.U. Demuth, Dissertation A. Math. Nat. Fakultät der Universität Halle 1981). Darüber hinsus wurden kürzlich irreversible inhibitoren (Acylenzyminhibitoren) für die Dipeptidyl Peptidase IV vom Dipeptidyl-O-Aroyl-hydroxylamin-Typ beschrieben (vgl. H. U. Demuth et al., J. Enzyma Inhibition [1988], 2, 129), Bei solchen inhibitoren sind toxikologische Bedenken bei in-vivo-Untersuchungen nicht auszuschließen. Außerdem ist im Falle eines therspeutischen Einsatzes von DP IV-Inhibitoren der reversiblen Hemmung von Enzymaktivitäten der Vorzug zu geben.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht derin, einfach herstellbare, hochwirksame reversible inhibitoren für die Dipeptidyl Peptidase IV auf der Basis spezieller Arninosäurederivate mit heterocyclischer Arnidstruktur zur Verfügung zu stellen, digals gut verträgliche Substanzen sowohl in vitro als auch in vivo die katalytische Aktivität der DP IV kompetitiv hemmen, wobel zweckgebunden in Abhängigkeit von der Molekülstruktur eine graduelle Abstufung ihrer inhibitorischen Potenz erreicht werden kann und die bevorzugt in der Medizin, sowohl im Bereich der Diagnostik als auch in der Therapie von Bedeutung sein könnten.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, neue inhibitoren für die Dipeptidyl Peptidase IV vom Aminosäureamid-Typ zu entwickeln, die reversibel die katalytische Aktivität der DP IV hemmen und sich durch folgende Vorteile auszeichnen:

- 1. Einfache Molekülstruktur
- 2. Einfache und damit kostengünstige Herstellung
- 3. Gezielte Modulierung der inhibitorischen Wirkpotenz durch Strukturmodifikation
- 4. Günstige physikalisch-chemische Parameter im Sinne einer hohen Penetrierfähigkeit
- 5. Hohe Bioverfügbarkeit am Wirkort

Die Aufgabe wird dadurch gelöst, daß Aminosäureamide der allgemeinen Formel I

synthetisiert werden, worln A und B wie folgt definiert sind:

A = a-Arninocarbonsaure der Struktur H₂N-CHR-COOH (R-aliphatischer, aromatischer oder heterocyclischer Rest): beispielsweise Alanin, Valin, Leucin, Serin, Threonin, Cystein, Methlonin, Prolin, Lysin, Arginin, Histidin, Glutaminsaure, Glutamin, Asparaginsaure, Asparagin, Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan, Norvalin, Norleucin, Ornithin, 2,4-Diaminobuttersaure, a-Aminobuttersaure, vorzugsweise isoleucin-jeweils in der L-Konfiguration, a-Aminoisobuttersaure, im

DEST AVAILABLE COPY

Falle der trifunktionellen Aminosäuren auch die entsprechenden N°- oder C°- oder O- bzw. S-substituierten Derivate in der L-Konfiguration, vorzugsweise N°-Acyl-, C°- bzw. O-Benzyl-Aminosäuren, beispielsweise N*-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin, O-Benzyl-L-Tyrosin, L-Glutaminsäure-y-benzylester, L-Asparaginsäure-β-benzylester sowie entsprechende, insbesondere durch Halogen-, Nitro-, Hydroxy-, niedere lineare oder verzweigte Alkyl- bzw. Alkoxy-Reste ringsubstituierte Derivate des L-Phenylalanins, L-Tyrosins, L-Tryptophans, vorzugsweise 4-Nitro-L-Phenylalanin, bzw. α-Iminocarbonsäuren der Struktur

mit n = 2,3,4, beispielsweise L-Azetidin-2-carbonsäure, L-Prolin, L-Pipecolinsäure, verwandte Verbindungen, wie L-3,4Dehydroprolin, L-Thioprolin sowie die entsprechenden durch Halogen-, Nitro-, Hydroxy-, Cyano-, niedere lineare oder
verzweigte Alkyl bzw. Alkoxyreste substituierten Derivate, beispielsweise L-4-Hydroxyprolin.

B = spezielle heterocyclische Amine oder heterocyclische Aminaldehyde: Pyrrolin, Thiazolin, Piperidin, Morpholin, Pyrazolin, Pyrazolidin, Piperazin, Oxazolidin, Oxazolidin, Imidazolidin, Azetidin, Aziridin, vorzugsweise Pyrrolidin, Thiazolidin, L-Prolinal, L-Thioprolinal, sowie die entsprechenden durch Halogen-, Nitro- bzw. Alkylreste substituterten Derivate. Einige als DP IV-Inhibitoren bevorzugte erfindungsgemäße Verbindungen sind die Aminosäurederivate:

tle-pyrrolidid,

lle-thiazolidid,

lle-prolinal,

lle-thioprolinal,

Nº-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-pyrrolldid,

Nº-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-thiazolidid,

Nº-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-prolinal,

N°-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-Lys-thioprolinal.

Die Darstellung der erfindungsgemäßen Aminosäureamide als reversible inhibitoren der DP IV erfolgt ausgehend von X-A-Y bzw. X-A(Z)-Y (im Falle einer trifunktioneilen Aminosäure für A) durch Umsetzung mit B, worln A und B wie zuvor definiert sind, X für eine in der Peptidschicht gebräuchliche a-Aminoschutzgruppe steht (vgl. E. Wünsch, Synthese von Peptiden in Houben Weyl Band 15/l, Methoden der organischen Chemie, Ed. E. Müller, Georg-Thieme-Verlag Stuttgart 1974), vorzugsweise ein tert. Butyloxycarbonyl-Rest, Z in Abhängigkeit von der Natur der trifunktioneilen Aminosäure eine gebräuchliche Seitenkettenschutzgruppe darsteilt, bevorzugt vom tert. Butyl-Typ, d. h. für den Schutz der N°-Aminofunktion kommt der tert. Butyloxycarbonyl-Rest, für die Blocklerung der a-ständigen Carboxygruppen der tert. Butylester und für Hydroxy-bzw. Thiolfunktionen der tert. Butyl-Rest zum Einsatz und Y Hydroxy, Aktivester, bevorzugt Pentafluorphenyl-bzw. N-Hydroxysuccinimidester bedeutet, nach den in der Peptidchemie üblichen Methoden zur Knüpfung der Amidbindung nämlich N,N-Dicyclohexylcarbodlimid, N,N-Dicyclohexylcarbodlimid, N,N-Dicyclohexylcarbodlimid, N,N-Dicyclohexylcarbodlimid, N,N-Dicyclohexylcarbodlimid (vgl. E. Wünsch s. o.) oder 2-(1 H-Benzotrizzol-1-yl-1-1,3,3-tetramethyluroniumsatze (vgl. R. Knorr et al., Abstracts 20th Europ. Peptide Symposlum Tübingen 1989) bzw. Benzotriazol-1-yl-0xy-tris(dimethylamino)phosphoniumsatze (vgl. A. Fournier et al., int. J. Peptide Protein Res., 1988, 31, 86) zu den geschützten Aminosäureamiden der allgemeinen Formel II und III

X-A-B

(II)

X-A(Z)-B

(111)

mit A, B, X, Z in der abigen Definition.

Vorzugsweise erfolgte die Knüpfung der Amidbindung zwischen A und B über die Mischanhydridtechnik bzw. die Aktivestermethode, wobei bevorzugt N-Hydroxysuccinimid- oder Pentafluorphenylester zum Einsatz kommen. Die erhaltenen geschützten Aminosäureamide der allgemeinen Formel II und III können, falls erforderlich, durch Umkristalisation bzw. durch Säulenchromatographie an Kleselgel oder LH-20 gereinigt werden. Nach gleichzeitiger oder nacheinander geschalteter Abspaltung der für X und Z eingesetzten Schutzgruppen mit den in der Peptidchemle üblichen Deblockierungsverfahren (vgl. E. Wünsch s. o.) für die genannten bevorzugten Schutzgruppen tert. Butyloxycarbonyl, tert. Butylester, tert. Butyl durch Acidolyse (u. a. mittels HCI/Essigsäure; HCI/Essigsster; HCI/Dioxan; Trifluoressigsäure gegebenenfalls in Gegenwart von Kationenfängern) erhält man die gewünschten Aminosäureamide der allgemeinen Formel I, die, falls erforderlich, durch Umkristallisation bzw. durch Säulenchromatographie an Sephadex G 10 oder an schwach sauren Ionenaustauschern gereinigt werden können.

Die erfindungsgemäß erhaltenen Aminosäurederivate mit heterocyclischer Amidstruktur gemäß Formel i und/oder deren pharmazeutisch annehmbare Salze können als reversible Inhibitoren der Dipeptidyl Peptidase IV die katalytische Aktivität des Enzyms in gereinigter Form als auch in normalen oder pathologisch veränderten menschlichen und tierischen Seren, in Organen, Geweben und Zeilen menschlicher, tierischer, pflanzlicher und mikrobieller Herkunft sowohl in vivo als auch in vitro hemmen und als potentielle Therapeutika in Bereichen, der durch die Dipeptidyl Peptidase IV regulativ gesteuerten Stoffwechselprozesse, vorzugsweise im Rahmen der Blutdruckregulation, der Blutgerinnung, der Zeilproliferation, aber auch im Processing biologisch aktiver prolinhaltiger Peptide zur Anwendung kommen.

Die Erfindung soll anhand von Ausführungsbeispielen näher erklärt werden, ohne sie einzuschränken.

Es werden folgende Abkürzungen verwendet:

Aminosauresymbole entsprechend IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature, Biochem. J., 219, 345 (1984).

SPro L-Thioprolin (L-Thiazolidin-4-carbonsaure)

AcOH Essigsäure

Boc tert. Butyloxycarbonyl

CAIBE Chlorkohlensäureisobutylester

DC Dünnschichtchromatogramm,-chromatographisch

DPIV Dipeptidyl Peptidase IV

d. Th. der Theorie

EE Essigsäureethylester

EtOH Ethanol
Fp Schmelzpunkt
h Stunde(n)
i. Vak im Vakuum

LM Lösungsmittel
MeOH Methanol
Min. Minuten

NEM N-Ethylmorpholin
OPIp Pentafluorphenylester
pNA 4-Nitroanilid

RT Raumtemperatur

SC Säulenchromatographie,-chromatographisch

TEA Triethylamin
THF Tetrahydrofuran

Z(NO₂) 4-Nitrobenzyloxycarbonyl

Unter _üblicher Aufarbeitung" versteht man:

Nach beendeter Kupplungsreaktion wird das jeweilige Rohprodukt in Essigestar aufgenommen und die Lösung nacheinander zweimal mit Wasser (NaCl-gesättigt), dreimal mit 5%iger KHSO₄-Lösung, zweimal mit Wasser, dreimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatiösung und dreimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und das Rohprodukt durch Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum isoliert.

Folgende Laufmittelssysteme (in Volumenanteilen) zur Dünnschichtchromatographie auf Silicagel-Fertigplatten (Silufol UV 254, CSSR) wurden verwendet:

 BAE
 Benzen-Aceton-Essigsäure
 70 + 30 + 1,5

 BAW
 2-Butanol-Amelsensäure-Wasser
 76 + 15 + 20

 BEWE
 1-Butanol-Essigsäure-Wasser-Essigester
 20 + 20 + 20 + 20

 BPEW
 1-Butanol-Pyridin-Essigsäure-Wasser
 30 + 20 + 6 + 24

 CM
 Chloroform-Methanol
 90 + 10

Zur Ermittlung der Inhibitorischen Aktivität der erfindungsgemäß synthetisierten DP (V-Inhibitoren wurden die Ki-Werte durch Auftragung nach Dixon (in: J. Lasch, Enzymkinetik, Fischer-VLG, Jena 1987) 1/vi gegen [I] aus dem Schnittpunkt von mindestens

vi - gemessene Initialgeschwindigkeit der DP IV-katalysierten Hydrolyse des Substrates Ala-Pro-pNA

Essigester-Pyridin-Essigsäure-Wasser

[1] - Konzentration des als DP (V-Inhibitor untersuchten Aminosäureamides im MeBansatz

Die Messungen wurden bei pH 8,3 in 0,04M Phosphatpuffer durchgeführt. Die Ionenstärke betrug 0,125, eingestellt mit Kaliumchlorid. Die Temperatur des Meßansatzes betrug 30°C. Die Bestimmung des Wertes für vi wurde bei jeder Substrat- und Inhibitorkonzentration 3fsch durchgeführt.

Beispiel I

N°-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin-pyrrotidid · hydrochlorid (H-Lys[Z(NO₂)]-N - HCl

2,95g Boc-Lys[Z(NO₂)]-OH wurden in 30ml THF gelöst und bei -15°C mlt 880µl NEM und 900µl CAIBE versetzt. Nach 6 Min. wurden 573µl Pyrrolldin bei -15°C zugegeben. Man ließ 1h bei -15°C und über Nacht bei RT rühren. Die Aufarbeitung erfolgte wie üblich. Das nach Trocknen i. Vak. erhaltene amorphe Boo-Lys[Z(NO₂)]-N wurde in 20 ml 1,1 N HCI/AcOH gelöst und

30 Min. bei RT gelassen. Das Produkt wurde mit Ether ausgefällt und anschließend aus MeOH/Ether umkristallisiert. Die weitere Reinigung erfolgte SC an Sephadex G 10 mit 0,1 M AcOH als Elutionsmittel.

Ausbeute;

FPFW

Fp: 157-160°C

[a]60: +9,670(c=1,AcOH)

DC: einheltlich in BAW, BEWE und BPEW

Ki: $(3,48 \pm 0,5) \cdot 10^{-7}$ M

90+15+4,5+2,3

Beispiel [[
L-Valin-pyrrolidid · hyd				:
413µl Pyrrolidin zu und	urden in 20 ml EE gelöst und bei –20°C mit 6 I ließ 1 h bei –20°C und über Nacht bei RT rü	ihren. Die Aufarbeitung erfolgte	wie ublich. Das olige	
Boo-Val-N W	ırde bei RT 30 Min. mit 3N HCI/EE behandelt	L Nach Einengen des LM i. Vak. k	oristallisierte das Produkt aus	
EtOH/EE in farblosen h	ladein aus.			
	620 mg (60,3 % d. Th.)	•		
· Fp: {a}}°:	178-180°C +33.93°(c=1, AcOH)	•	· ·	
fa19_:	einheitlich in BAW, BEWE und BPEW	. •	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
Ki:	(4,75±0,7)+10 ⁻⁷ M			
Beispiel III				
L-Isoleucin-pyrrolidid	hydrochlorid (H-lie-N - HCl)	•		
1,98g Boo-lle-OPfp wi 1 h bei RT rühren. Nact	urden in 15ml THF gelöst und bei 0°C mit 450 1 Abziehen des LM i. Vak. wurde der Rückstan	μl Pyrrolidin und 280 μl TEA vers id in EE aufgenommen und mit H	etzt. Man ließ 1 h bei 0°C und 2O, KHSO4-Lösung und H2O	•
gewaschen und über I	Na ₂ SO ₄ getrocknet, Der EE wurde i. Vak. abg	ezogen und das ölige Boo-lle-N	30 Min. bei RT mit	
15ml1 1 NHCVAcOH1	behandelt. Das Produkt wurde zunächstmit E	ther ausgefällt, abgesaugt, im E	xsikkator über KOH und P2Os	
getrocknet und anschl	lleßend aus isopropanol/Diisopropylether u 760 mg (68,8 % d. Th.)	mkristallisiert.	. 🛎 .	
Fp:	179–184°C	•	•	
[a]3°:	+29,31°(c=1,AcOH)	*		
DC:	eInheitlich in BAW, BEWE und BPEW	· <u>.</u>	·	
Ki:	(2,43±0,1)+10 ⁻⁷ M			·
Beispiel IV				·
L-Thioprolin-pyrrolid	d hydrochlorid	•	• •	
IV.1. Boc-SPro-N				٠.
888 mg Boo-SPro-OH	wurden in 10 ml THF gelöst und nach Abkül	hlen auf –20°C unter Rühren mit	1484 µl NEM und 495 µl CAIBE	•-
versetzt. Nach 8Min. f	ügte man bel −20°C 443 μl Pyrrolidin hinzu, li	ieß die Reaktionsmischung noch	1 h bei – 20°C und über Nacht	:
bei RT rühren. Danaci	n wurde i. Vak. eingeengt, der Rückstand in E n Rückstandes mit n-Hexan setzte Kristalliss	tion eju: Et saldenommen ana me parci:	radigaarbeitat Natar	÷
	416 mg (38% d. Th.)			7
Fp:	108-109°C			
[a] ₀ ;	-154,2° (c = 0,62, AcOH)			?
DC:	einheitlich in BAE, CM, EPEW			
٠	1	•	•	•
IV. 2. H-SPro-N	- HCI		<u>.</u>	
265ma Bóo-SPro-N	wurden in 3ml 1,1 N HCL/AcOH gelös	st. mit 300 µl Thioanisol versetzt	und 30 Min. bei RT	:
	hließend engte man i. Vak. ein, versetzte den			
Ausbeute:		•		3
Fp:	164–166°C			÷
[a]36:	-122,7°(c=0,62; AcOH)	•		
DC; Ki:	einheitlich in BAW, BEWE, BPEW (3,95 ± 0,4)+10 ⁻⁶ M	•		•
NI.	(0)00 X 0)41, 10 III			•
Selspiel V		•		~
				٠.
L-Isoleucin-thlazolidi	d · hydrochlorid			٠.
V.1. Boc-lle-N	•	• :	•	
2 21 a Boo-lla-OH uz	ırden in 10mi THF gelöst und bei −20°C unto	er Rühren mit 1,27 mi NEM und 1	1,3 mi CAIBE versetzt. Nach	•
AMin fligte man hei -	-20°C 1.28a Thiazolidia-hydrochloriduad we	eitere 1,27 mi NEM hinzu, ließ das i	Realdionsgemisch noch i nibei	
_20°C 1 26a Thiazoli	din-hydrochlorid und weitere 1.27 ml NEM i	hinzu, lie8 das Reaktionsgemtsci	h noch in del – zu Cund über	
Nacht bei RT rühren.		der Huckstand in Et aufgenomn	tien und wie ublich	-
aufgearbeitet. Der öf	Danach wurde der Ansatz I. Vak. eingeengt.		Heran 11:17 neminint	٠
	ige Rückstand wurde durch Flash-Chromato	graphic an Kieselgel mit Ether/n	Hiexan (1:1) gereinigt.	
Ausbeute	ige Rückstand wurde durch Flash-Chromato : 952 mg (31 % d. Th.)	graphie an Kieselgel mit Ether/r	n-Hexan (1:1) gereinigt.	* * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
	ige Rückstand wurde durch Flash-Chromato	graphie an Kieselgel mit Ether/n	n-Hexan (1:1) gereinigt.	

V.2. H-IIo-N

790 mg Boc-lie-thiazolidid wurden in 8ml 1,1 N HCI/AcOH gelöst, mit 800 μl Thioanisol versetzt und 30 Min. bei RT stehengelassen. Danach wurde der Ansatz i. Vak. eingeengt und das Produkt mit Ether ausgefällt.
Ausbeute: 584 mg (94% d. Th.)

118-120°C +18.6° (c = 0,77, AcOH) einheitlich in BPEW, BEWE, BAW (1,23±0,2)•10⁻⁷ M Fp: [a]å⁶: DC:

Ki: